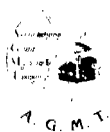




**Circolo Culturale
Micologia e Ambiente**
Via Chimera, 76/A
52100 Arezzo



**Associazione
Gruppi
Micologici
Toscani**

5.2.43



ANNALI MICOLOGICI A.G.M.T.

Numero 1

2004

EXTRACTA

El orden Boletales: Riqueza y variedad

María P. Martín

Real Jardín Botánico, CSIC. Plaza de Murillo 2, 28014 Madrid, España.

[<maripaz@ma-rjb.csic.es>](mailto:maripaz@ma-rjb.csic.es)

El orden Boletales fue propuesto por GILBERT (1931) para incluir a aquellos hongos epigeos que presentan basidioma putrescente con himenóforo tubular. Siguiendo las hipótesis de autores anteriores, como MALENÇON (1931) y HEIM (1971), sobre una posible relación filogenética entre especies con basidiomas boletoides y especies secotioides/gasteroides, KREISEL (1969) incluyó algunos géneros agaricoides (himenóforo con láminas), secotioides (el sombrero no se separa del pie, el himenóforo queda protegido siempre por el peridio, y en el interior de la región fértil aparece una columela) y gasteroides (basidiomas siempre cerrados sin columela).

PEGLER & YOUNG (1981) consideran que los representantes del orden Boletales pueden distribuirse en 5 familias sobre la base, principalmente, del tipo de espora. SINGER (1986) limita el número de familias a 3 basándose en caracteres morfológicos, como el tipo de cutícula, y en datos sobre los metabolitos secundarios. KIRK et al (2001) estiman 18 (Tabla I), ya que incluyen los datos aportados por el Dr. Bruns y colaboradores (Univ. Berkeley), basados en las secuencias de la subunidad 18S del DNA ribosómico, en la que establecen, por ejemplo, las relaciones filogenéticas entre *Coniophora* DC (anteriormente en Aphyllophorales) y representantes de la familia *Boletaceae*. Sin embargo, datos moleculares recientes, establecen algunas de las familias en otros órdenes. Así, los estudios que está realizando la Dra. Peintner (Austria) sobre las relaciones filogenéticas en el género *Cortinarius* (Pers.) Gray (O. Agaricales), demuestran que las especies de este género son afines a las especies del género *Hymenogaster* Vittad. (gasteroide).

Uno de los mayores retos en los estudios sistemáticos y filogenéticos en hongos es entender el origen y la diversificación de las formas biológicas, por lo que se hace imprescindible el uso de distintas técnicas moleculares, como por ejemplo, análisis de las secuencias de las regiones específicas del DNA, como las subunidades 18S y 28S del nrDNA que nos ayuden a establecer los límites entre las familias y géneros (y los límites entre los distintos morfotipos), y análisis de las secuencias de las regiones ITS, también del nrDNA, para establecer las relaciones entre las especies de los distintos géneros. Es esta línea de investigación donde se enmarca el estudio del orden Boletales que estamos realizando en el Real Jardín Botánico de Madrid (CSIC, España), dentro de los proyectos "Flora Micológica Ibérica" (DGES, PB98-0538-C04-01) y "Sistemática Molecular de Basidiomycotina. I. Orden Boletales" (Plan nacional I+D+I, REN2001-1842/GLO).

Nuestro principal objetivo es establecer los límites filogenéticos entre las familias, géneros y especies incluidos en KIRK et al (2001) dentro del orden Boletales: así como de los diversos morfotipos (boletoides, agaricoides, secotioides, gasteroides y resupinoides). Ello nos permitirá la identificación, catalogación y distribución de los hongos de este orden. Las bases de datos actuales, consta de unas 150 secuencias de las regiones ITS y de unas 400 de la subunidad 28S del DNA, obtenidas a partir de colecciones de la Península Ibérica depositadas en los herbarios BCC-MPM (Univ. Barcelona) y MA-Fungi (Real Jardín Botánico, Madrid), así como a partir de material recolectado durante las campañas de Flora Micológica Ibérica de los años 2001, 2002 y 2003. También estamos incluyendo secuencias obtenidas de colecciones enviadas por nuestros colaboradores, tanto del resto de Europa como de zonas tropicales y subtropicales. En algunos casos, estamos analizando material tipo o material representativo depositado en los herbarios correspondientes, L (Liège, Bélgica), MICH (Michigan, USA), MU (Munich, Alemania), NY (New York, USA), UPS (Uppsala, Suecia), entre otros.

Obtener DNA en cantidad y calidad suficiente es uno de los mayores retos cuando se trabaja con material de herbario, ya que algunos tipos pueden tener más de 200 años y su DNA estar muy degradado. En trabajos previos (MARTÍN & WINKA, 2000), demostramos que de las extracciones de DNA efectuadas mediante un kit comercial (E.Z.N.A. Fungal® DNA Miniprep Kit, Omega Biotech) se obtienen mejores amplificaciones que de las extracciones en las que se utiliza CTAB o SDS como detergente en los tampones de extracción.

Para obtener copias de las regiones de nrDNA, empleamos distintas parejas de iniciadores, tal y como hemos sugerido en trabajos anteriores y, en algunos casos, la pareja a utilizar dependerá del estado del material y de su antigüedad (MARTÍN & JOHANNESSON, 2000). Las amplificaciones de las extracciones se efectúan mediante reacciones individuales con Ready-to-Go®PCR Beads (Amersham-Pharmacia Biotech), siguiendo las condiciones de amplificación mencionadas en (MARTÍN & WINKA, 2000). Los amplímeros purificados los enviamos al Servicio de Secuenciación del C.I.B. donde realizan las reacciones de secuenciación por separado de las dos cadenas de DNA. Este servicio nos envía los electroferogramas de las secuencias vía correo electrónico.

Para obtener la secuencia consenso de cada una de las colecciones en estudio se comparan los electroferogramas de la secuencia directa y la reversa-complementaria mediante el programa informático Sequence Navigator™ Sequence Comparison (Perkin Elmer). Las secuencias consenso se confrontan con las secuencias homólogas de nuestras bases de datos y con las obtenidas del Banco Genético EMBL mediante los programas informáticos Sequence Navigator™ Sequence Comparison y SeqApp.

Tanto el análisis de las secuencias, como el alineamiento de las mismas son trabajos que consumen mucho tiempo, ya que, aunque los programas informáticos pueden ayudarnos en los primeros momentos, siempre se deben revisar manualmente los dos procesos. Además, el problema se agrava en el caso de análisis de las regiones ITS en hongos, ya que presentan una gran variabilidad. Los análisis de las distintas matrices de secuencias se efectúan con los programas TREECON y PAUP.

Los primeros resultados apuntan a que los basidiomas agaricoides, boletoides, secotioides y gasteroides han aparecido en distintas ocasiones en el curso de la evolución de este orden. La convergencia en un tipo de basidioma, principalmente los secotioides y gasteroides, se podría explicar como una adaptación al medio. Sin embargo, es necesario, para tener una

visión global de la evolución hacia las formas secotioides y gasteroides de este orden, incluir especies de todos los géneros, considerados actualmente dentro del orden Boletales, haciendo hincapié en las especies de ambientes xéricos, así como en las especies tropicales y subtropicales.

De acuerdo con otros autores (BRUNS & SZARO, 1992; GRUBISHA *et al.*, 2001), se han producido dos radiaciones: la radiación suilloide (*Chroogomphus* (Singer) O.K. Mill., *Gomphidius* Fr., *Rhizopogon* Fr. & Nordholm, *Truncocolumella* Zeller y *Suillus* Gray) y la radiación boletoide (*Astraeus* Morgan, *Aureoboletus* Pouzar, *Austroboletus* (Coner) Wolfe, *Boletellus* Murrill, *Boletinellus* Murrill, *Boletinus* Kalchbr., *Boletus* Fr., *Chalciporus* (Singer) Singer, *Gastroboletus* Lohwag, *Gyrodon* Opat., *Gyroporus* Qué., *Leccinum* Gray, *Melanogaster* Corda, *Paragyrodon* (Singer) Singer, *Paxillus* Fr., *Phylloporus* Qué., *Pisolithus* Alb. & Schwein., *Porphyrellus* E.-J. Gilbert, *Pulveroboletus* Murrill, *Scleroderma* Pers., *Strobilomyces* Berk., *Tylopilus* P. Karst. y *Xerocomus* Qué.).

La familia *Boletaceae*, con el mayor número de especies a nivel mundial y la mejor representada en la Península Ibérica, es la más problemática, ya que los límites entre los géneros, basados en el tamaño de los poros del himenóforo, el tipo de cutícula del sombrero o el aspecto general del basidioma no quedan claros.

Bibliografía

- BRUNS, T.D. & T.M. SZARO, 1992: *Rate and mode differences between nuclear and mitochondrial small-subunit rRNA genes in mushrooms*. Mol. Biol. Evol. 9:836-855.
- GRUBISHA, L.C., J.M. TRAPPE, R. MOLINA & J.W. SPATAFORA, 2001: *Biology of the ectomycorrhizal genus Rhizopogon. V. Phylogenetics relationships in the Boletales inferred from LSU rDNA sequences*. Mycologia 93(1): 82-89.
- GILBERT, E., 1931: *Les Bolets*. Paris.
- HEIM, R., 1971: *The inter-relationships between the Agaricales and gasteromycetes*. In Evolution in the higher basidiomycetes, An International Symposium. (Ed. R.H. Peterson), Univ. Tennessee Press, Knoxville, pp. 505-534.
- KIRK, P.M., CANNON, P.F., DAVID, J.C. & J. A STALPERS, 2001: *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi*. 9th ed., CABI Bioscience, Surrey, 655 pp.
- KREISEL, H., 1969: *Grundzüge eines natürlichen Systems der Pilze*. Cramer verlag, Lehre, 245 pp.
- MALENÇON, G., 1931: *La série des Asterospores*. Travaille Cryptogamie dedie a L. Magin, 1: 337-396.
- MARTÍN, M.P. & H. JOHANNESSON, 2000: *Battarreia phalloides and B. stevenii, insight into a long-satanding taxonomic puzzle*. Mycotaxon, 76: 67-75.
- MARTÍN, M.P. & K. WINKA, 2000: *Alternative methods of extracting and amplifying DNA from lichens*. Lichenologist 32 (2): 189-196.
- PEGLER, D.N. & T.W.K. YOUNG, 1981: *A natural arrangement of the Boletales, ith reference to spore morphology*. Trans. Br. Mycol. Soc. 76: 103-146.
- SINGER, R., 1986: *The Agaricales in modern taxonomy*. 4th ed. Koeltz: Königstein, 981 pp.

Tabla 1: Familias que integran el orden Boletales de acuerdo con Kirk et al. (2001). Se indica el número de géneros y de especies, el tipo de basidioma y si hemos obtenido datos moleculares o no.

	N° Géneros	N° Especies	Tipo de Basidioma	Datos Moleculares
F. Boletaceae Chevall.	26	415	boletoide, secotioide	SI
F. Boletellaceae P.M. Kirk, P.F. Cannon & J.C. David	2	14	boletoide	SI
F. Coniophoraceae Ulbr.	11	42	resupinado	SI
F. Diplocystaceae Kreisel	1	1	gasteroide	NO
F. Gasterellaceae Zeller	1	1	gasteroide	NO
F. Gastrosporiaceae Pilát	1	2	gasteroide	NO
F. Gomphidiaceae Maire ex Jülich	4	27	agaricoide	SI
F. Gyroporaceae Locq.	2	20	boletoide	SI
F. Hygrophoropsidaceae Kühner	3	17	agaricoide	SI
F. Hymenogastraceae Vittad.	10	127	gasteroide	NO
F. Leucogastraceae Moreau ex Fogel	2	25	gasteroide	NO
F. Melanogastraceae E. Fisch.	2	25	gasteroide	SI
F. Octavianiaceae Locq. ex Pegler & T.W.K. Young	2	12	gasteroide	NO
F. Paxillaceae Lotsy	7	37	agaricoide	SI
F. Protogastraceae Zeller	1	1	gasteroide	NO
F. Rhizopogonaceae Gäum. & C.W. Dodge	4	158	gasteroide	SI
F. Sclerodermataceae Corda	7	58	gasteroide	SI
F. Suillaceae (Singr) Besl & Bresinsky	2	51	boletoide, secotioide	SI
	89	1025		